植 物 分 类 与 资 源 学 报　2013, 35 (2): 171～172
Plant Diversity and Resources　DOI: 10.7677/ynzwyj201312093

芒属植物荻愈伤组织的诱导与植株再生*

王青云，程红焱，王伟青，宋松泉**
（中国科学院植物研究所，北京　100093）

摘要：利用资源植物荻（*Miscanthus sacchariflorus*）的幼穗作为外植体，通过愈伤组织途径建立了植株再生体系。结果表明：在附加 600 mg·L^{-1} 脯氨酸、500 mg·L^{-1} 水解酪蛋白、2.0 mg·L^{-1} 2，4-D 和 0.1 mg·L^{-1} 6-BA 的 MS 培养基上能高效诱导出生长良好的愈伤组织；将其转移到 MS+1.5 mg·L^{-1} 6-BA 培养基上诱导产生芽，再转移到 1/2 MS+0.25 mg·L^{-1} NAA+0.25 mg·L^{-1} IAA 培养基上生根后，可发育为生长健壮的植株。

关键词：愈伤组织途径；芒属植物荻；再生体系；幼穗
中图分类号：Q 943.1　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：2095-0845(2013)02-171-02

Efficient Induction of Callus and Plant Regeneration from *Miscanthus sacchariflorus* Young Ear

WANG Qing-Yun, CHENG Hong-Yan, WANG Wei-Qing, SONG Song-Quan**
(*Institute of Botany*, *Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100093, China)

Abstract: Plants belonging to the genus *Miscanthus* are considered promising bioenergy crops. Young ears of *Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Benth. were used as explants, and its regeneration system was successfully established via callus pathway. The results showed that Murashige and Skoog (MS) medium containing 600 mg·L^{-1} proline, 500 mg·L^{-1} hydrolyzed casein, 2.0 mg·L^{-1} 2, 4-D and 0.1 mg·L^{-1} 6-BA was an optimal medium for induction and growth of callus from young ears. The shoots were induced on MS medium containing 1.5 mg·L^{-1} 6-BA via callus. The roots were induced after shoots were transferred to 1/2 MS medium containing 0.25 mg·L^{-1} NAA and 0.25 mg·L^{-1} IAA, after that, the young plants were cultivated and grew well on the nutrient soil.

Key words: Callus pathway; *Miscanthus sacchariflorus*; Regeneration system; Young ear

芒属（*Miscanthus*）植物为禾本科 C_4 草本植物，具有高生物量、C_4 光合特性、高胁迫耐性以及多年生等特性，是一类可用于造纸、水土保持和矿区生态修复的资源植物，也是一类可用作工业原料、发电和生产液体生物燃料（例如乙醇）的能源植物。芒属植物异花传粉，自交不亲和；在自然生境下，主要是通过根状茎进行营养繁殖，这种性状不利于其快速繁殖和品种的遗传改良。易自力等（2001）利用南荻幼穗、成熟胚、花药和芽尖等作为外植体，建立了愈伤组织诱导与再生系统，并将马铃薯蛋白酶抑制基因导入愈伤组织获得了转基因植株。Wang 等（2011）利用芒的成熟种子作为外植体诱导愈伤组织，并利用基因枪介导法进行了遗传转化。本文以荻的幼穗作为外植体，在附加 600 mg·L^{-1} 脯氨酸、500 mg·L^{-1} 水解酪蛋白、2.0 mg·L^{-1} 2，4-D 和 0.1 mg·L^{-1} 6-BA 的 MS 培养基上，获得了愈伤组织的诱导率>90%，随后的成芽率和生根率>90%，

＊ 基金项目：国家科技支撑计划（2012BAC01B05）
＊＊ 通讯作者：Auther for correspondence；E-mail：sqsong@ibcas.ac.cn
收稿日期：2012-06-21，2012-08-21 接受发表
作者简介：王青云（1980-）女，实验员，从事植物组织培养工作。

以及再生苗移栽后的成活率>95%。

1 材料和方法

1.1 材料

荻（*Miscanthus sacchariflorus*（Maxim.）Benth.）种植于北京植物园实验地，于2011年8-9月取发育中的幼穗作为实验材料。

1.2 方法

1.2.1 愈伤组织的诱导 将发育中的幼穗（外带剑叶叶鞘，长度分别为1～9 cm）用75%乙醇进行表面消毒5 min，无菌剥离幼穗并用75%乙醇和0.1%次氯酸钠分别消毒3 min和15 min，再用无菌水冲洗4～5次。将灭菌后的幼穗切成1 cm的小段，接种于愈伤组织诱导培养基上。培养基的成分为MS或者NB（N6大量元素、B5微量元素）培养基，附加600 mg·L^{-1}脯氨酸，500 mg·L^{-1}水解酪蛋白，30%蔗糖，8 g·L^{-1}琼脂，以及不同种类和浓度的激素，pH 5.8～6.0。培养条件为（26±2）℃，黑暗。每隔3～5 d观察1次，30 d后统计结果。愈伤组织诱导率（%）=愈伤块数/接种外植体的个数×100。

1.2.2 丛生芽的诱导 待愈伤组织块长到0.5 cm大小时，将其转移到生芽培养基上。培养基的成分为MS+1.5 mg·L^{-1} 6-BA，附加600 mg·L^{-1}脯氨酸，500 mg·L^{-1}水解酪蛋白，30%蔗糖，8 g·L^{-1}琼脂，pH 5.8～6.0。培养条件为（26±2）℃，光照时间为14 h/d，光照强度为27 μmol $m^{-2}s^{-1}$。每隔3～5 d观察1次，30 d后统计结果。成芽率（%）=产生丛生芽的愈伤组织块数/接种的愈伤组织块数×100。

1.2.3 根的诱导 当丛生芽长到1～3 cm时，将其转移到生根培养基上。培养基的成分为1/2 MS+0.25 mg·L^{-1} NAA+0.25 mg·L^{-1} IAA，附加600 mg·L^{-1}脯氨酸，500 mg·L^{-1}水解酪蛋白，30%蔗糖，8 g·L^{-1}琼脂，pH 5.8～6.0。培养条件、光照时间和光照强度同1.2.2。每隔3～5 d观察1次，15 d后统计结果。生根率（%）=生根苗数/接种苗数×100。

1.2.4 炼苗与移栽 打开培养瓶的封口膜，置于室温、自然光照的条件下放置2～3 d；取出瓶苗，清洗附带的培养基后移栽到营养土中。适当浇水，并用塑料袋保持适当湿度。置于25 ℃和光照条件下（光照时间：14 h/d；光照强度：63 μmol $m^{-2}s^{-1}$）生长。7 d后移去塑料袋，20 d后检查其成活率；以植株直立，萌发出新叶的幼苗作为成活的标准。成活率（%）=成活苗数/移栽苗×100。

2 结果与讨论

2.1 愈伤组织的诱导

不同的培养基对荻愈伤组织的诱导率和质量影响不同。在2.0 mg·L^{-1} 2，4-D和0.1 mg·L^{-1} 6-BA存在时，MS培养基的愈伤组织诱导率显著高于NB培养基。与易自力等（2001）的结果类似。植物激素的组分与比例在荻愈伤组织的诱导中也起重要的作用，Wang等（2010）报道，较高的2，4-D（5 mg·L^{-1}）和较低的6-BA（0.01 mg·L^{-1}）组合能高效地诱导芒的成熟种子产生愈伤组织；高水平的6-BA引起愈伤组织褐化，2 mg·L^{-1} 6-BA是植株再生的适宜浓度。我们的结果表明，荻愈伤组织的诱导的适宜激素组合为2 mg·L^{-1} 2，4-D+0.1 mg·L^{-1} 6-BA。

2.2 植株再生

选择亮黄色、生长良好且质地紧密的愈伤组织，转接到生芽培养基上，4星期后产生不定芽，成芽率>90%。当不定芽生长至3～5 cm时，转接到生根培养基上，3星期后可观察到根长出；生根率>90%。值得注意是，添加0.5%活性碳有利于根的生长。当再生苗的根数达到3～5条、根长为2～3 cm、苗高为5～6 cm时就可以开始炼苗，再生苗移栽后的成活率>95%。

荻愈伤组织在MS+1.5 mg·L^{-1} 6-BA培养基上容易产生芽，在1/2 MS+0.25 mg·L^{-1} NAA+0.25 mg·L^{-1} IAA培养基上容易生根。这些结果与易自力等（2001）的报道不同，他们认为适宜的生芽培养基是MS+2 mg·L^{-1} 6-BA+1 mg·L^{-1} NAA，适宜的生根培养基是MS+0.5 mg·L^{-1} NAA+0.25 mg·L^{-1} MET。

利用幼穗作为外植体诱导产生愈伤组织往往受到生长季节或者栽培温室空间的限制。利用荻的成熟种子或者芽端分生组织诱导愈伤组织的高效产生是值得研究的。

〔参 考 文 献〕

Wang X, Yamada T, Kong FJ *et al.*, 2011. Establishment of an efficient *in vitro* culture and particle bombardment-mediated transformation systems in *Miscanthus sinensis* Anderss., a potential bioenergy crop［J］. *GCB Bioenergy*, **3**（4）: 322—332

Yi ZL（易自力）, Zhou PH（周朴华）, Chu CC（储成才）*et al.*, 2001. Establishment of genetic transformation system for *Miscanthus sacchariflorus* and obtaining of its transgenic plants［J］. *High Technology Letters*（高技术通讯）,（4）: 20—24